

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
 US Department of Commerce
 United States Patent and Trademark
 Office, PCT
 2011 South Clark Place Room
 CP2/5C24
 Arlington, VA 22202
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE
 in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 12 January 2001 (12.01.01)	
International application No. PCT/JP00/03697	Applicant's or agent's file reference JST-24-PCT
International filing date (day/month/year) 07 June 2000 (07.06.00)	Priority date (day/month/year) 08 June 1999 (08.06.99)
Applicant KITANO, Hiroaki et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
 10 November 2000 (10.11.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer Kiwa Mpay Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---



国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)
[PCT 18 条、PCT 規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 JST-24-PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/03697	国際出願日 (日.月.年) 07.06.00	優先日 (日.月.年) 08.06.99
出願人 (氏名又は名称) 科学技術振興事業団		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条 (PCT 18 条) の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第47条 (PCT 規則38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 4 図とする。 ☒ 出願人が示したとおりである。

☐ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ C12N15/09, G06N3/12

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ C12N15/09, G06N3/12

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PA	WO, 2000/11145, A1 (FUJITSU LTD) 2.3月.2000 (02.03.00) & JP, 2000-60553, A	1-5
PA	JP, 2000-57124, A (日本電気株式会社 他) 25.02月.2000 (25.02.00) ファミリーなし	1-5
A	US, 5598350, A1 (国立遺伝学研究所長 他) 28.1月.1997 (28.01.97) & GB, 2283840, A & JP, 7-274965, A	1-5

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04.09.00

国際調査報告の発送日

19.09.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

本間 夏子



4N

9637

電話番号 03-3581-1101 内線 3488



C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 6-261755, A (株式会社東芝) 20. 09月. 1994 (20. 09. 94) ファミリーなし	1 - 5



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/03697

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ C12N15/09, G06N3/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/09, G06N3/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI (DIALOG) , BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PA	WO, 2000/111145, A1 (Fujitsu Ltd.) 02 March, 2000 (02.03.00) & JP, 2000-60553, A	1-5
PA	JP, 2000-57124, A (NEC Corporation et al.) 25 February, 2000 (25.02.00) (Family: none)	1-5
A	US, 5598350, A1 (National Institute of Genetics, et al.) 28 January, 1997 (28.01.97) & GB, 2283840, A & JP, 7-274965, A	1-5
A	JP, 6-261755, A (Toshiba Corp.) 20 September, 1994 (20.09.94) (Family: none)	1-5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
04 August, 2000 (04.08.00)

Date of mailing of the international search report
19 September, 2000 (19.09.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



SECRET

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

SHIMIZU, Mamoru
Ohzono Building
7-10, Kanda-mitoshiro-cho
Chiyoda-ku
Tokyo 101-0053
JAPON

RECEIVED

DEC 26, 2000

MADOKA INTERNATIONAL
PATENT OFFICE

Date of mailing (day/month/year) 14 December 2000 (14.12.00)		
Applicant's or agent's file reference JST-24-PCT		IMPORTANT NOTICE
International application No. PCT/JP00/03697	International filing date (day/month/year) 07 June 2000 (07.06.00)	Priority date (day/month/year) 08 June 1999 (08.06.99)
Applicant JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION et al		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:

US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

EP

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 14 December 2000 (14.12.00) under No. WO 00/75301

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a **demand for international preliminary examination** must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the **national phase**, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38



137

REC'D 22 JUN 2001
WIPO PCT


PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 JST-24-PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/03697	国際出願日 (日.月.年) 07.06.00	優先日 (日.月.年) 08.06.99
国際特許分類 (IPC) Int. Cl ⁷ C12N15/09, G06N3/12		
出願人 (氏名又は名称) 科学技術振興事業団		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で <u>3</u> ページからなる。 <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で _____ ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。 I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 10.11.00	国際予備審査報告を作成した日 05.06.01	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 本間 夏子 	4N 9637
電話番号 03-3581-1101 内線 3488		



1. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)



V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲 1-5 有
請求の範囲 無

進歩性(IS)

請求の範囲 1-5 有
請求の範囲 無

産業上の利用可能性(IA)

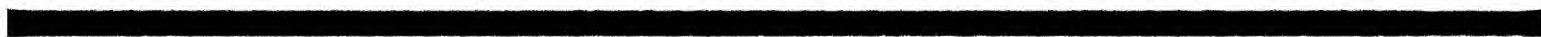
請求の範囲 1-5 有
請求の範囲 無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1: US, 5598350, A (国立遺伝学研究所長, 富士通株式会社)
28.1月.1997

文献2: JP, 6-261755, A (株式会社東芝) 20.9月.1994

請求の範囲の請求項1-5について、国際調査報告で引用された文献1-2に対して進歩性を有する。文献1-2にはエンハンサー又はプロモーターの内部構造を探求することにより、遺伝子の転写制御をより明確にすることができる遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法については記載されておらず、しかもその点は文献1-2から当業者といえども容易に想到し得ないものである。



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference JST-24-PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/03697	International filing date (day/month/year) 07 June 2000 (07.06.00)	Priority date (day/month/year) 08 June 1999 (08.06.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/09, G06N 3/12		
Applicant JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 3 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 10 November 2000 (10.11.00)	Date of completion of this report 05 June 2001 (05.06.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/03697

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/03697

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-5	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-5	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-5	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Document 1: US, 5598350, A (Director General of National Institute of Genetics, and Fujitsu Ltd.), 28 January, 1997 (28.01.97)

Document 2: JP, 6-261755, A (Toshiba Corp.), 20 September, 1994 (20.09.94)

The subject matters of claims 1-5 appear to involve an inventive step in view of documents 1 and 2 cited in the ISR. Documents 1 and 2 do not describe the method of estimating the binding site structure of the control factor of a gene, which can clarify the transcription control of the gene more specifically, by searching the internal structure of an enhancer or a promoter. A person skilled in the art could not have easily conceived of this constitution from documents 1 and 2 either.



(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2000 年12 月14 日 (14.12.2000)

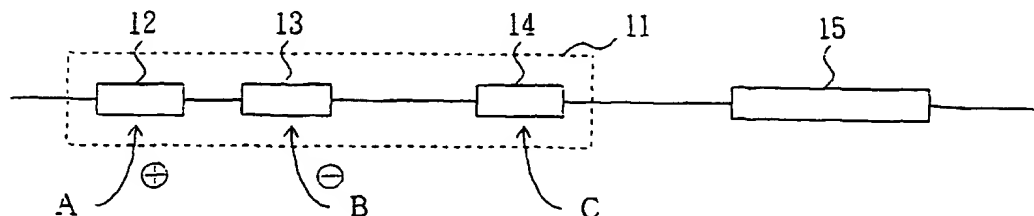
PCT

(10) 国際公開番号
WO 00/75301 A1

- (51) 国際特許分類: C12N 15/09, G06N 3/12 仙波町二丁目18番3号 Saitama (JP). 濱橋秀互 (HAMA-HASHI, Shugo) [JP/JP]; 〒211-0025 神奈川県川崎市中原区木月1566番 佐藤ビル303号室 Kanagawa (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/03697
- (22) 国際出願日: 2000 年6 月7 日 (07.06.2000)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願平11/160672 1999 年6 月8 日 (08.06.1999) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科学技術振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県川口市本町四丁目1番8号 Saitama (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 北野宏明 (KITANO, Hiroaki) [JP/JP]; 〒350-0035 埼玉県川越市西小
- (74) 代理人: 弁理士 清水 守 (SHIMIZU, Mamoru); 〒101-0053 東京都千代田区神田美土代町7番地10 大園ビル Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): US.
- (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: METHOD FOR PREDICTING BINDING SITE STRUCTURE OF GENE REGULATOR AND APPARATUS THEREFOR

(54) 発明の名称: 遺伝子の制御因子の総合部位構造推定方法及びその装置



(57) Abstract: A method for predicting the binding site structure of a gene regulator whereby the internal structure of an enhancer or a promoter is searched and thus the transcriptional regulation the gene can be more definitely clarified. To predict the binding site structure of a gene regulator, setting is made of a gene carrying the binding site with the regulatory structure to be predicted in the enhancer or promoter domain, to which a protein serving as a transcriptional factor binds, existing in the upstream or downstream of the coding domain encoding the gene. Then a calculation model with the use of the locus and other gene expression factors as parameters is constructed concerning the regulator participating in the above-described gene in the above enhancer or promoter domain or the binding site of a regulator transferred hypothetically. Based on the thus constructed calculation model, the transcriptional dose of the gene is calculated and the parameters of the calculation model are searched by using the parameter search algorithm so as to establish the expression of the gene which has been experimentally set as described above. Thus, the microstructure of the above-described enhancer or promoter is predicted.

[続葉有]

WO 00/75301 A1



(57) 要約:

エンハンサー又はプロモーターの内部構造を探索することにより、遺伝子の転写制御をより明確にすることができる遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法及びその装置を提供する。

遺伝子の制御因子の結合部位構造推定にあたり、遺伝子をコードしているコード領域の上流又は下流域にある転写因子となるタンパク質が結合するエンハンサー又はプロモーター領域内の制御因子結合部位の制御構造を推定したい遺伝子を設定し、前記エンハンサー又はプロモーター領域において上記遺伝子に関与する制御因子、もしくは仮説的に導入する制御因子の結合部位について、その遺伝子座及びその他の遺伝子の発現の要因をパラメータとする計算モデルを構築し、この構築した計算モデルにより遺伝子の転写量を算出し、パラメータ探索アルゴリズムを使用して、実験で得られている前記設定された遺伝子の発現が得られるように計算モデルのパラメータを探索し、前記エンハンサー又はプロモーターのマイクロストラクチャーを推定する。

明 細 書

遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法及びその装置

技術分野

本発明は、時空間軸に関する遺伝子の発現データ、タンパク質の濃度データ等からその現象を引き起こしている遺伝子の制御に係り、特に遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法及びその装置に関するものである。

なお、ここで、遺伝子 (gene) とは、遺伝の基本的な単位を意味し、mRNA (messenger ribonucleic acid: 伝令リボ核酸) をも含むものと定義する。

背景技術

ここに、分子生物学的研究対象としてよく用いられるショウジョウバエを例に述べる。

例えば、ショウジョウバエの場合、最初は細胞を形成していないので、転写産物は、拡散によって広がっていく。このため、ある核の周囲に存在するタンパク質の濃度が転写の制御に重要な役割を果たす。拡散は、このシミュレーションでは、次の式を使い計算している。

$$\partial U_i / \partial t = D_i (\partial^2 U_i / \partial x^2)$$

ここで、 U_i はタンパク質 i の濃度、 D_i はタンパク質 i の拡散係数である。このように拡散したタンパク質が遺伝子の発現にどう影響を与えるかは、各々の遺伝子の結合領域への結合確率で計算する。例えば、簡単には、タンパク質 a と b の濃度が、 U_a と U_b であり、これが一つの結合領域を競合している場合、タンパク質 a が結合する確率は、次の式ようになる。

$$P = U_a / (U_a + U_b)$$

しかし実際には、結合親和性 (binding affinity) がかわるため、それらを α_a 、 α_b として、次の式ようになる。

$$P = \alpha_a U_a / (\alpha_a U_a + \alpha_b U_b)$$

上記から明らかなように、従来より遺伝子の転写制御はタンパク質の濃度のみ

に依存するものであった。

第1図は従来の遺伝子の転写制御の模式図である。

この図において、101は上流域にあるタンパク質を結合するエンハンサーであり、スイッチからなるプロモーターとして機能する。102はコーディング(coding)領域、A、Bはタンパク質、+は活性化、-は抑制性を示している。

上記したように、普通の遺伝子の転写制御は、タンパク質iの濃度だけに依る関係式で記述されることが多い。

発明の開示

しかしながら、遺伝子の転写制御は上記したタンパク質の濃度のみによるのではなく、そのタンパク質が実際に結合する部位に関与することが明らかになりつつあり、エンハンサー又はプロモーターの内部構造の解明は重要課題である。

そこで、本発明は、上記した状況に鑑みて、エンハンサー又はプロモーターの内部構造を探究することにより、遺伝子の転写制御をより明確にすることができる遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法及びその装置を提供することを目的とする。

本発明は、上記目的を達成するために、

〔1〕遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法において、遺伝子をコードしているコード領域の上流域又は下流域にある転写因子となるタンパク質が結合するエンハンサー又はプロモーター領域内の制御因子の結合部位の制御構造を推定したい遺伝子を設定する工程と、前記エンハンサー又はプロモーター領域において上記遺伝子に関与する制御因子、もしくは仮説的に導入する制御因子の結合部位について、その遺伝子座及びその他の遺伝子の発現の要因をパラメータとする計算モデルを構築する工程と、この構築した計算モデルにより遺伝子の転写量を算出する工程と、パラメータ探索アルゴリズムを使用して、実験で得られている前記設定された遺伝子の発現が得られるように計算モデルのパラメータを探索する工程と、前記エンハンサー又はプロモーターのマイクロストラクチャーを推定する工程とを施すようにしたものである。

〔２〕上記〔１〕記載の遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法において、前記その他の遺伝子の発現の要因は、温度、分子量、拡散係数、結合親和力、反応速度、逆反応速度、一回の転写率である。

〔３〕上記〔１〕又は〔２〕記載の遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法において、前記エンハンサー又はプロモーターのいくつかの結合部位が局所的に相互作用している構造であるマイクロストラクチャーは、探索されたパラメータセットから、密に結合部位が存在している部分では、それらが物理的に近傍に存在して相互作用している又は物理的には離れているが機能としては密接に相互作用している構造であるマイクロストラクチャーを構築しており、また、探索されたパラメータセットから、粗に結合部位が存在している部分では、それらがそれぞれ物理的に離れて存在して機能している又は機能的に独立して作用している構造であるマイクロストラクチャーと推定するようにしたものである。

〔４〕遺伝子の制御因子の結合部位構造推定装置において、上流域又は下流域にあるタンパク質を結合するエンハンサー又はプロモーター領域において制御因子の結合部位を推定すべき遺伝子の設定手段と、前記エンハンサー又はプロモーター領域の制御因子の結合部位の遺伝子座及びその他の遺伝子の発現の要因をパラメータとして計算モデルを構築する手段と、この構築した計算モデルにより遺伝子の転写量を算出する手段と、パラメータ探索アルゴリズムを使用して、実験で得られている前記設定された遺伝子の発現が得られるように計算モデルのパラメータを探索する手段と、前記エンハンサー又はプロモーターのマイクロストラクチャーを推定する手段とを具備するようにしたものである。

〔５〕上記〔４〕記載の遺伝子の制御因子の結合部位構造推定装置において、前記その他の遺伝子の発現の要因は、温度、分子量、拡散係数、結合親和力、反応速度、逆反応速度、一回の転写率である。

図面の簡単な説明

第１図は、従来の遺伝子の転写制御の模式図である。

第２図は、本発明の実施例を示す遺伝子の制御因子の結合部位構造推定装置のブロック図である。

第3図は、本発明の実施例を示す遺伝子の制御因子の結合部位構造推定フローチャートである。

第4図は、本発明の実施例を示す遺伝子の転写制御の模式図である。

第5図は、本発明の具体例を示す eve 2 のエンハンサー又はプロモーター領域の概念図である。

第6図は、第5図の領域Aの拡大図である。

第7図は、結合部位をモデル化した図である。

第8図は、eve 2 の発現データを示す図である。

第9図は、ランダムに解集団を作成する場合の解空間と解候補の概念図である。

第10図は、ランダムに解集団を作成しない場合の解空間と解候補の概念図である。

第11図は、解1を示す図である。

第12図は、解2を示す図である。

第13図は、解3を示す図である。

第14図は、結合部位が密な場合を示す図である。

第15図は、結合部位が粗な場合を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明の実施の形態を図を参照しながら説明する。

第2図は本発明の実施例を示す遺伝子の制御因子の結合部位構造推定装置のブロック図である。

この図において、1は入力装置、2は処理装置（CPU／メモリ）、3はエンハンサー又はプロモーター内の制御因子の結合部位を推定したい遺伝子の設定処理部、4は前記エンハンサー又はプロモーター内の関与する制御因子、もしくは仮説的に導入する制御因子の結合部位について、その遺伝子座をパラメータとする計算モデルの構築処理部、5は構築した計算モデルによる遺伝子の転写量の算出処理部、6は設定された遺伝子の発現パターンの設定処理部、7はパラメータ探索アルゴリズムの記憶部、8はパラメータ探索アルゴリズムを使用して、実験で得られている前記設定された遺伝子の発現が得られるように、計算モデルのパ

ラメータを探索する計算モデルのパラメータ探索処理部、9はエンハンサー又はプロモーターのマイクロストラクチャーの推定処理部、10は出力装置である。

第3図は本発明の実施例を示す遺伝子の制御因子の結合部位構造推定フローチャートである。

(1) まず、上流域又は下流域にあるタンパク質を結合するエンハンサー又はプロモーター内の制御因子の結合部位を推定したい遺伝子を設定する(ステップS1)。

(2) 次に、前記エンハンサー又はプロモーター内の関与する制御因子、もしくは仮説的に導入する制御因子の結合部位について、その遺伝子座をパラメータとする計算モデルを構築する(ステップS2)。

(3) 次に、構築した計算モデルにより遺伝子の転写量を算出する(ステップS3)。

(4) 次に、パラメータ探索アルゴリズムを利用して、実験で得られている前記設定された遺伝子の発現が得られるように計算モデルのパラメータを探索する(ステップS4)。

(5) ステップS4において、パラメータが的確に決定できないか。又は得られた結果が良くないかのチェックを行う(ステップS5)。

(6) ステップS5においてYESの場合には、構築したモデルの改修を行う(ステップS6)。

(7) ステップS5においてNOの場合には、エンハンサー又はプロモーターのマイクロストラクチャーの推定を行う(ステップS7)。つまり、前記得られたパラメータセットから、密に結合部位が存在している部分では、それらが局所的にマイクロストラクチャー、つまり、それらが物理的に近傍に存在して相互作用している又は物理的には離れているが機能としては密接に相互作用している構造を構築しており、前記得られたパラメータセットから、粗に結合部位が存在している部分では、それらがそれぞれ独立にその遺伝子に作用しているマイクロストラクチャー、つまり、それらがそれぞれ物理的に離れて存在して機能している又は機能的に独立して作用している構造であると推定することができる。

なお、制御因子を全て確定できない場合には、未確定の制御因子をパラメータ

として、処理することもできる。

また、結合部位（距離、寸法）を全て確定できない場合には、未確定の結合部位として、処理することもできる。

以下、上記した遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法について詳細に説明する。

第4図は本発明の実施例を示す遺伝子の転写制御の模式図である。

この図において、11は上流域にあるタンパク質A、B、Cを結合するエンハンサーであり、スイッチからなるプロモーターとして機能する。このエンハンサー又はプロモーター11は、局所的な構造を導入する、例えば、制御因子の結合部位12、13、14の遺伝子座（例えば、X軸）をパラメータとして記述する。なお、15はコーディング（coding）領域である。なお、+は活性性、-は抑制性を示している。

このように、本発明の特徴は、与えられた遺伝子の発現データを基に、遺伝子〔mRNA（伝令リボ核酸）を含む〕の制御因子の結合部位の構造を推定することにある、つまり、遺伝子のマイクロストラクチャー（エンハンサー又はプロモーター）の構造（配列）を推定することにある。

その遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法は、一般的には、以下のようである。

（1）初期集団の形成

結合部位の位置を変数として、遺伝子の制御領域を構築する。

（2）パラメータ推定

初期集団に対して、与えられた発現データに近い発現データを生成することのできるパラメータを推定する。これには、遺伝的アルゴリズム、焼き鈍し法等を利用する。

（3）マイクロストラクチャー推定

パラメータ推定を行なった結果、例えば、遺伝子座としていくつかの制御因子結合部位が近いところに片寄って存在した場合には、それが近いところに存在して局所的に相互作用していることが推定される。

一方、それぞれ離れた遺伝子座に存在する場合には、それらの制御因子が、そ

れぞれ独立に各結合部位に作用しているということが推定される。

以下、その遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法について、第4図を用いて詳細に説明する。

(1) 第4図に示すように、エンハンサー又はプロモーター11の局所的な構造を導入する。ここでは、制御因子の結合部位12, 13, 14として表す。

そこで、具体的には、制御因子の結合部位12, 13, 14の「遺伝子座」をパラメータとして記述する。

(2) パラメータオプティマイゼーション

遺伝子座の位置を最適化することにより、機能的に近く又は遠くに存在しなければ機能しない様なマイクロストラクチャーを検出することができる。

その手順としては、

① エンハンサー又はプロモーター11内の構造(マイクロストラクチャー)を推定したい遺伝子を設定する。

② 前記エンハンサー又はプロモーター11内の関与する制御因子、もしくは仮説的に導入する制御因子の結合部位について、その遺伝子座をパラメータとする計算モデルを構築する。

③ 構築した計算モデルにより遺伝子の転写量を算出する。

④ GA(遺伝的アルゴリズム)、SA(シミュレーテッド・アニーリング)などのパラメータ探索アルゴリズムを伴用して、実験で得られている上記①において設定された遺伝子の発現が得られるように計算モデルのパラメータを探索する。

⑤ 得られたパラメータセットから、

(i) 密に結合部位が存在している部分では、物理的に近傍に存在している、又は物理的に離れていても機能的に密接に相互作用を及ぼしているマイクロストラクチャーを構築しているということが推定される。

(ii) 粗に結合部位が存在していることから、物理的に遠くに存在する、又は近くに存在しても機能的に独立しているマイクロストラクチャーを構築しているということが推定される。

以下、遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法について具体的に説明する。

ここでは、ショウジョウバエの *even-skipped* 遺伝子の2本目（以下、*eve2* という）の縞模様形成に関する具体例について説明する。

第5図は本発明の具体例を示す *eve2* のエンハンサー又はプロモーター領域の概念図である。

この図において、B1～B5は *bicoid*（以下、*bcd* という）の結合部位、H3は *hunchback*（以下、*hb* という）の結合部位、K3～K5は *Kruppel*（以下、*Kr* という）の結合部位、G1～G3は *giant*（以下、*gt* という）の結合部位である。○で表現されている結合部位は活性性の結合部位であり、□で表現されている結合部位は抑制性の結合部位である。これらに制御因子といわれるタンパク質が結合することによって、このエンハンサー又はプロモーターは遺伝子転写を活性化したり抑制化したりする。これによって、遺伝子の転写が制御されていると考えることができる。

前記のように、従来の遺伝子の転写制御は、関係する制御因子それぞれの濃度によって決定論的に導かれることが多かった。例えば、濃度だけに依存したモデルの場合には、遺伝子が転写される確率を P とすると、

$$P = \frac{(\alpha_{B4}C_{B4} + \alpha_{B5}C_{B5})}{(\alpha_{B4}C_{B4} + \alpha_{B5}C_{B5} + \alpha_{K5}C_{K5} + \alpha_{G3}C_{G3})} \quad \dots (1)$$

のように表すことができる。

今、特に、第5図の点線で囲まれた箇所（領域A）に注目する。ここには、複数の制御因子の結合部位がDNA配列上に密に存在している。近年の生物学における研究によって、このような領域においては、単純に制御因子の濃度に依存した結果を期待することができないことが分かってきつつある。つまり、このような領域では、単純に制御因子の濃度に依存して結合／非結合が決定されている（結果的に遺伝子の転写が制御されているということ）のではなく、密に存在していることによって生じる局所的な結合競合が結合／非結合に大きく関わっている。

ここで、領域Aに注目する。そして、この領域Aで生じている現象について第6図を用いて説明する。例えば、今、第6図のように、*Kr* が一番始めに *K5* に

結合した状況を考える。もともと、B 5 の領域は K 5 の領域と同じ配列を共有している。つまり、どちらかが結合してしまうと、そこには結合したタンパク質が覆いかぶさってしまうと考え、結合していない方の結合領域の結合する機能を消失させると考える。つまり、この時は、K 5 に K r が結合してしまっているため、B 5 の配列は K r によって覆われてしまい、機能できなくなる。同様に、たとえば結合部位同士において同じ配列を共有していないとしても、結合するタンパク質の大きさによって、そのタンパク質の結合部位ではない結合部位が覆われてしまうこともある。その場合には、やはり覆われてしまった結合部位は機能することができなくなる。第 6 図の場合では、K r が結合することによって、結果的にはその他の B 4、B 5、G 3 の結合部位が機能できなくなっている。結果的に、領域 A に存在する活性性の結合部位の全てが K r によって邪魔されてしまい、このときには、抑制の機能だけが発生するということが説明できる（もし、従来の濃度依存の方式であれば、この状態にあっても、b c d の濃度が高ければ、活性性の機能が発生していることになる）。

このように、結局、濃度だけで記述している従来の場合とは異なり、本発明で行う方式を採用することによって、濃度だけではなく、そのときの確率的な挙動を加味して遺伝子の転写量を決定することができるようになる。

そこで、上記の e v e 2 の制御因子において、今、活性性の制御因子が b c d、h b であり、抑制性の制御因子が K r、g t であると分かっているとする（もしくは、この内のいくつかは知られていないものであり、仮説的に導入することも可能であるとする）。このとき、e v e 2 のエンハンサー又はプロモーターの構造が分かっているとき、またはエンハンサー又はプロモーターの構造ではなく、機能的に競合／非競合にあるか分からない場合、このような場合等の状況で制御因子間の局所構造を推定したい場合、以下を行うことにより推定を行うことができる。

（１）エンハンサー又はプロモーター構造の記述

第 5 図の領域 A に注目すると、第 7 図に示すように、DNA（デオキシリボ核酸）配列上の特定の点 X を設定し、そこから DNA 配列を数えて結合部位に至るまでの距離をパラメータとして導入する。同時に、結合部位自体のサイズ、その

結合親和力（または、結合確率、解離確率など）、さらにその結合部位に制御因子が結合した時に発生する転写への貢献度、その他その結合部位の持ち得る変数をそれぞれの結合部位に対して導入することができる。

具体的に第5図の領域Aを記述すると以下ようになる。

$$\text{エンハンサー} \left\{ \begin{array}{l} K5: \text{距離 } a \text{ サイズ } l_a \text{ 結合親和力 } k_a \dots \\ B5: \text{距離 } b \text{ サイズ } l_b \text{ 結合親和力 } k_b \dots \\ G3: \text{距離 } c \text{ サイズ } l_c \text{ 結合親和力 } k_c \dots \\ B4: \text{距離 } d \text{ サイズ } l_d \text{ 結合親和力 } k_d \dots \end{array} \right. \dots (2)$$

このように、導入した結合部位はパラメータによって表現される。結合部位の数や、これらのパラメータの値を変化させることによって、一般的にどのようなエンハンサー又はプロモーターの構造であっても表現することができる。

(2) 実験値についての説明

実験値は、後述の「パラメータ探索」の時に解（または最適値、理想値等という）として用いられる。本発明のモデルの場合、実験値は次のように与えられる。

$$\text{コンビネーション 1} \left\{ \begin{array}{l} bcd: \alpha_{bcd} < C_{bcd} < \beta_{bcd} \\ hb: \alpha_{hb} < C_{hb} < \beta_{hb} \\ Kr: \alpha_{Kr} < C_{Kr} < \beta_{Kr} \\ gt: \alpha_{gt} < C_{gt} < \beta_{gt} \end{array} \right\} \rightarrow \text{転写量 1} \dots (3)$$

$$\text{コンビネーション 2} \left\{ \begin{array}{l} bcd: \alpha_{bcd} < C_{bcd} < \beta_{bcd} \\ hb: \alpha_{hb} < C_{hb} < \beta_{hb} \\ Kr: \alpha_{Kr} < C_{Kr} < \beta_{Kr} \\ gt: \alpha_{gt} < C_{gt} < \beta_{gt} \end{array} \right\} \rightarrow \text{転写量 2} \dots (4)$$

$$\text{コンビネーション } i \left\{ \begin{array}{l} bcd: \alpha_{bcd} < C_{bcd} < \beta_{bcd} \\ hb: \alpha_{hb} < C_{hb} < \beta_{hb} \\ Kr: \alpha_{Kr} < C_{Kr} < \beta_{Kr} \\ gt: \alpha_{gt} < C_{gt} < \beta_{gt} \end{array} \right\} \rightarrow \text{転写量 } i \dots (5)$$

つまり、このような制御因子の濃度のコンビネーションによって、遺伝子がどれくらい転写されるかという実験値が与えられている。実際には第8図のようなグラフが実験によって得られているわけであるが、それを数式的に記述すると上記したようないくつかのコンビネーションで表すことができる。

(3) パラメータ探索

さて、上記のようにエンハンサー又はプロモーターを記述して、その転写をシミュレーションすると、そこには値が完全には決定されていないパラメータが含まれているので、シミュレーション結果が実験結果と異なる場合がある。そこで、何らかの方法を用いてこのパラメータを最適化することによって、決定できなかった結合部位に対する何らかのパラメータを具体的に決定できるようになる。

ここでは実施例として、計算機を用いて自動的にそのパラメータを決定するパラメータ探索アルゴリズムとしてGAを用いる場合について説明する。

(1) 母集団の形成

まず、複数(100とか1000とか、その値は様々)の解から成る解候補の母集団を形成する。これらの解の集合は、各パラメータがそれぞれランダム(第9図参照)、もしくは、何らかの理由に基づいて全体の解空間21の部分(第10図参照)な場所に集中して設定されている。ここで、22は解が存在していると予想される部分空間である。例えば、拡散係数が0の解候補もあれば、1.0の解候補もあるかもしれない。結合親和力も同様に0のものもあれば、0.01のものもあるかもしれない。また、遺伝子座やその他、その時のモデルに導入しており探索する変数について、値を変化させながら複数の解候補を設定する。

$$\text{解候補 } 1 \left\{ \begin{array}{llll} K5: & \text{距離 } a_1 & \text{サイズ } l_{a_1} & \text{結合親和力 } k_{a_1} \dots \\ B5: & \text{距離 } b_1 & \text{サイズ } l_{b_1} & \text{結合親和力 } k_{b_1} \dots \\ G3: & \text{距離 } c_1 & \text{サイズ } l_{c_1} & \text{結合親和力 } k_{c_1} \dots \\ B4: & \text{距離 } d_1 & \text{サイズ } l_{d_1} & \text{結合親和力 } k_{d_1} \dots \end{array} \right. \dots (6)$$

$$\text{解候補 } 2 \left\{ \begin{array}{llll} K5: & \text{距離 } a_2 & \text{サイズ } l_{a_2} & \text{結合親和力 } k_{a_2} \dots \\ B5: & \text{距離 } b_2 & \text{サイズ } l_{b_2} & \text{結合親和力 } k_{b_2} \dots \\ G3: & \text{距離 } c_2 & \text{サイズ } l_{c_2} & \text{結合親和力 } k_{c_2} \dots \\ B4: & \text{距離 } d_2 & \text{サイズ } l_{d_2} & \text{結合親和力 } k_{d_2} \dots \end{array} \right. \dots (7)$$

$$\text{解候補 } i \left\{ \begin{array}{llll} K5: & \text{距離 } a_i & \text{サイズ } l_{a_i} & \text{結合親和力 } k_{a_i} \dots \\ B5: & \text{距離 } b_i & \text{サイズ } l_{b_i} & \text{結合親和力 } k_{b_i} \dots \\ G3: & \text{距離 } c_i & \text{サイズ } l_{c_i} & \text{結合親和力 } k_{c_i} \dots \\ B4: & \text{距離 } d_i & \text{サイズ } l_{d_i} & \text{結合親和力 } k_{d_i} \dots \end{array} \right. \dots (8)$$

実際の解候補は上記のようになる。このそれぞれの解候補が、それぞれ一つのエンハンサー又はプロモーターを記述していることになる。よって、パラメータの値が異なるそれぞれの解候補では、転写量がそれぞれ異なることが理解できる。

〔２〕転写量測定

作成した解候補は、それに含まれる変数の値が様々に異なるために、同じ環境で試験するとそれぞれの解候補についてその転写量が異なる。これを、一定の環境を準備し、そこにおいて、設定された解候補全てについてその転写量を測定する。

この段階では、その環境において、実験値と良く合う解候補や、全く一致しない解候補が存在していることになる。

〔３〕シミュレーション結果と実験値との比較

ある環境では、今扱っている遺伝子の転写量がどれくらいであるという情報があるとすると、これと同じ環境におけるシミュレーションによる転写量をこの実験値と比較する。例えば、実験によって、制御因子Aの濃度が C_A の時に遺伝子Xの転写量がTであるとする。比較は、これと同様に制御因子Aの濃度を C_A の時

う。単純には、この相違はこれらの差の絶対値で表されることが多い。（ただし、これだけではない。）

$$\Delta = |T_{\text{シミュレーション結果}} - T_{\text{実験値}}| \quad \dots (9)$$

この場合、 Δ の値が小さい方がより実験結果に近いと判断できる。つまり、より実験結果に近い転写量を生じさせることのできた解候補の方が他の解候補に比べて、実験結果と同様の転写量を得るためには優れていると判断することができる。

〔４〕選択／淘汰／遺伝的操作

実験値との比較によって、その解候補の良さが評価できている。これを適応度といい、遺伝的アルゴリズムでは、その解候補の生存率を表すものである。適応度の良いものは、次回の評価でも再度転写を試行できるが、適応度の悪いものは、次回の評価を行うことができなくなる。

具体的には、これが選択と淘汰のプロセスである。遺伝的アルゴリズムでは、解集団の評価を行うと、そこから良いものを抜き出すように選択して、再び解の評価を行う。ただし、そのままでは解候補の数が減ってしまうので、元の数になるように複製を行っている。この時、評価の悪かった解候補が選択されない。このように次回に選択されないことを淘汰されるという。

遺伝的操作では、突然変位、交差等が行われる。具体的には、突然変異では、例えば拡散係数が0.5だったものが何らかの値決定方法（ランダムの場合もあれば、SAのような方法を用いる場合もある）によって0.6に変更される。また、交差では、解候補Aと解候補Bとを選択し、それらの解の一部を交換することを意味する。

こうして、何度も適応度の評価及び選択／淘汰／遺伝的操作を繰り返している内に、解候補全体が洗練されてくる。

さて、ある程度の誤差には目をつぶるとすると、最適化アルゴリズムによって（準）最適化（完全に最適ではない場合には準最適ということがある）された解候補集団を得ることができる。これらの解候補から、実際のエンハンサー又はプロモーターの構造が推定できる。

解は以下のように与えられる。

$$\text{最適解} \left\{ \begin{array}{llll} K5: & \text{距離 } a_{\text{最適解}}: & \text{サイズ } l_{a_{\text{最適解}}} & \text{結合親和力 } k_{a_{\text{最適解}}} \dots \\ B5: & \text{距離 } b_{\text{最適解}}: & \text{サイズ } l_{b_{\text{最適解}}} & \text{結合親和力 } k_{b_{\text{最適解}}} \dots \\ G3: & \text{距離 } c_{\text{最適解}}: & \text{サイズ } l_{c_{\text{最適解}}} & \text{結合親和力 } k_{c_{\text{最適解}}} \dots \\ B4: & \text{距離 } d_{\text{最適解}}: & \text{サイズ } l_{d_{\text{最適解}}} & \text{結合親和力 } k_{d_{\text{最適解}}} \dots \end{array} \right. \dots (10)$$

ここでは、例として、第5図の領域Aに注目すると、最適解の結果として例えば第11図、第12図、第13図のようになるかもしれない。

すなわち、第11図に示すように、解候補の一つとして、第5図の領域Aに類似したものとなるかもしれない。

第12図に示すように、解候補の一つとして、K5とG3が入れ替わっているかもしれない。

第13図に示すように、解候補の一つとして、それぞれの結合部位がばらばらの位置（遺伝子座）にあるかもしれない。

このように、解候補として、いくつかの収束した結果が得られることになる。

〔5〕解が求められると、

これらの解について、実験値と同様の結果を得るためのエンハンサー又はプロモーターの構造には、具体的な値でどのような値が望ましいのかがわかる。これより、以下のような内容を検出することができる。

(a) 第14図に示すような結合部位が密な場合、結合部位が遺伝子座の近いところに存在している部分から、それらの結合部位が遺伝子の転写において、局所的な相互作用を持っていることが分かる。

i. それらが物理的な遺伝子座として近くに存在していなければならないという必要性を検出したと考えられる。

ii. 物理的な遺伝子座としては離れているかもしれないが、機能的に密に相互作用を及ぼしあっているために、解としては近くに存在するという結果とも考えられる。

(b) 第15図に示すような結合部位が粗な場合、結合部位がそれぞれ離れていることから、それらが遺伝子の転写において、それぞれ独立に遺伝子に対して機能しているということが分かる。

i. それらが物理的な遺伝子座として離れて存在していなければならない必要性を検出したと考えられる。

ii. 物理的な遺伝子座としては密に存在しているかもしれないが、機能的にそれぞれ独立して機能しているような場合に得られる結果として考えられる。

このように、エンハンサー又はプロモーターの構造を一切知らなくても、最終的に、そのエンハンサー又はプロモーターに含まれている結合部位の相互作用の状況、また、それらが含有している結合親和力や反応速度、逆反応速度などの値などが同時に最適化されることによって、実際の値を知る前に、具体的な値としてどのような値があり得るかを事前に知ることができる。

本発明によれば、上記のように構成したので、以下のような効果を奏することができる。

化学物質や薬品の製造の際に、ある物質の遺伝子への影響を調査するような場合、例えば、その物質がある遺伝子に対して活性化又は抑制性であるということ

を調べたい場合に、その遺伝子のエンハンサー又はプロモーター構造が完全にわかっていないために、その物質がどれほどの効力を持って遺伝子に働きかけているかがわからないとする。又は、それ以外の物質との競合関係によって遺伝子の転写制御が行われているということが予測されるが、実際にはそれがわかっていないとする。

このような場合に、本発明によって、その物質がどれほどの効力で遺伝子に働きかけているかや、他のどのような物質と局所的に相互作用を及ぼしているのかなどが、非常に迅速に、かつ低コストで推定することができる。

従来の方法では、ターゲットにしているエンハンサー又はプロモーター構造の配列を一つ一つチェックする必要がある、また、未知の物質の作用に関しては、全く考慮できないといった問題がある。

そのような場合、エンハンサー又はプロモーターの内部構造を考慮することにより、遺伝子の転写制御をより明確にすることができる。エンハンサー又はプロモーターのマイクロストラクチャーは、探索されたパラメータセットから、密に結合部位が存在している部分では、遺伝子座として近傍に存在しているかもしくは機能的に密接に相互作用している。又は、探索されたパラメータセットから、疎に結合部位が存在している部分では、それらがそれぞれ独立にその遺伝子に作用している構造にあると推定することができる。

したがって、本発明によって、これらの場合において、まず、コンピュータシミュレーションにより推定を行い、その後、有効な生物実験を計画し実行することによって、これまでの試行錯誤的に費やされてきた時間、労力、コストなどに多く消費される部分を軽減し、また、製薬などにおいて薬の副作用などの予測を可能にすることができる。

なお、本発明は上記実施例に限定されるものではなく、本発明の趣旨に基づいて種々の変形が可能であり、それらを本発明の範囲から排除するものではない。

以上、詳細に説明したように、本発明によれば、以下のような効果を奏することができる。

(A) エンハンサー又はプロモーターの内部構造を探究することにより、遺伝子の転写制御をより明確にすることができる。

(B) エンハンサー又はプロモーターのマイクロストラクチャーは、探索されたパラメータセットから、密に結合部位が存在している部分では、それらが局所的にマイクロストラクチャーを構築しており、また、探索されたパラメータセットから、粗に結合部位が存在している部分では、それらがそれぞれ独立にその遺伝子に作用しているマイクロストラクチャーと推定することができる。

(C) 上記からして、化学物質や薬品の製造にあたり、従来行われていた試行錯誤で、かつ長時間を要していた実験を迅速、的確に行うことができる。

産業上の利用可能性

本発明によれば、従来行われていた試行錯誤で、且つ長時間を要していた遺伝子の制御に関する実験を迅速・的確に行うことができ、化学物質や薬品の製造に好適である。

請 求 の 範 囲

1. 遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法において、

(a) 遺伝子をコードしているコード領域の上流域又は下流域にある転写因子となるタンパク質が結合するエンハンサー又はプロモーター領域内の制御因子の結合部位の制御構造を推定したい遺伝子を設定する工程と、

(b) 前記エンハンサー又はプロモーター領域において上記遺伝子に関与する制御因子、もしくは仮説的に導入する制御因子の結合部位について、その遺伝子座及びその他の遺伝子の発現の要因をパラメータとする計算モデルを構築する工程と、

(c) 該構築した計算モデルにより遺伝子の転写量を算出する工程と、

(d) パラメータ探索アルゴリズムを使用して、実験で得られている前記設定された遺伝子の発現が得られるように計算モデルのパラメータを探索する工程と、

(e) 前記エンハンサー又はプロモーターのマイクロストラクチャーを推定する工程とを施すことを特徴とする遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法。

2. 請求項1記載の遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法において、前記その他の遺伝子の発現の要因は、温度、分子量、拡散係数、結合親和力、反応速度、逆反応速度、一回の転写率であることを特徴とする遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法。

3. 請求項1又は2記載の遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法において、前記エンハンサー又はプロモーターのいくつかの結合部位が局所的に相互作用している構造であるマイクロストラクチャーは、探索されたパラメータセットから、密に結合部位が存在している部分では、それらが物理的に近傍に存在して相互作用している又は物理的には離れているが機能としては密接に相互作用している構造であるマイクロストラクチャーを構築しており、また、探索されたパラメータセットから、粗に結合部位が存在している部分では、それらがそれぞれ物理的に離れて存在して機能している又は機能的に独立して作用している構造であるマイクロストラクチャーと推定することを特徴とする遺伝子の制御因子の結合部位構造推定方法。

4. 遺伝子の制御因子の結合部位構造推定装置において、

(a) 上流域又は下流域にあるタンパク質を結合するエンハンサー又はプロモーター領域において制御因子の結合部位を推定すべき遺伝子の設定手段と、

(b) 前記エンハンサー又はプロモーター領域の制御因子の結合部位の遺伝子座及びその他の遺伝子の発現の要因をパラメータとして計算モデルを構築する手段と、

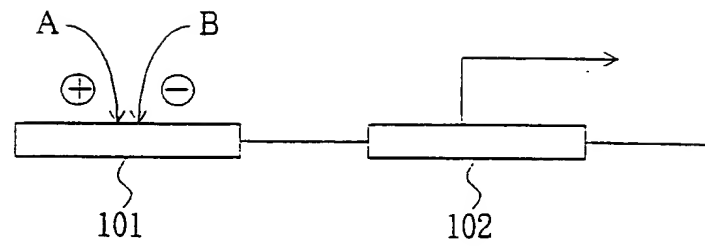
(c) 該構築した計算モデルにより遺伝子の転写量を算出する手段と、

(d) パラメータ探索アルゴリズムを使用して、実験で得られている前記設定された遺伝子の発現が得られるように計算モデルのパラメータを探索する手段と、

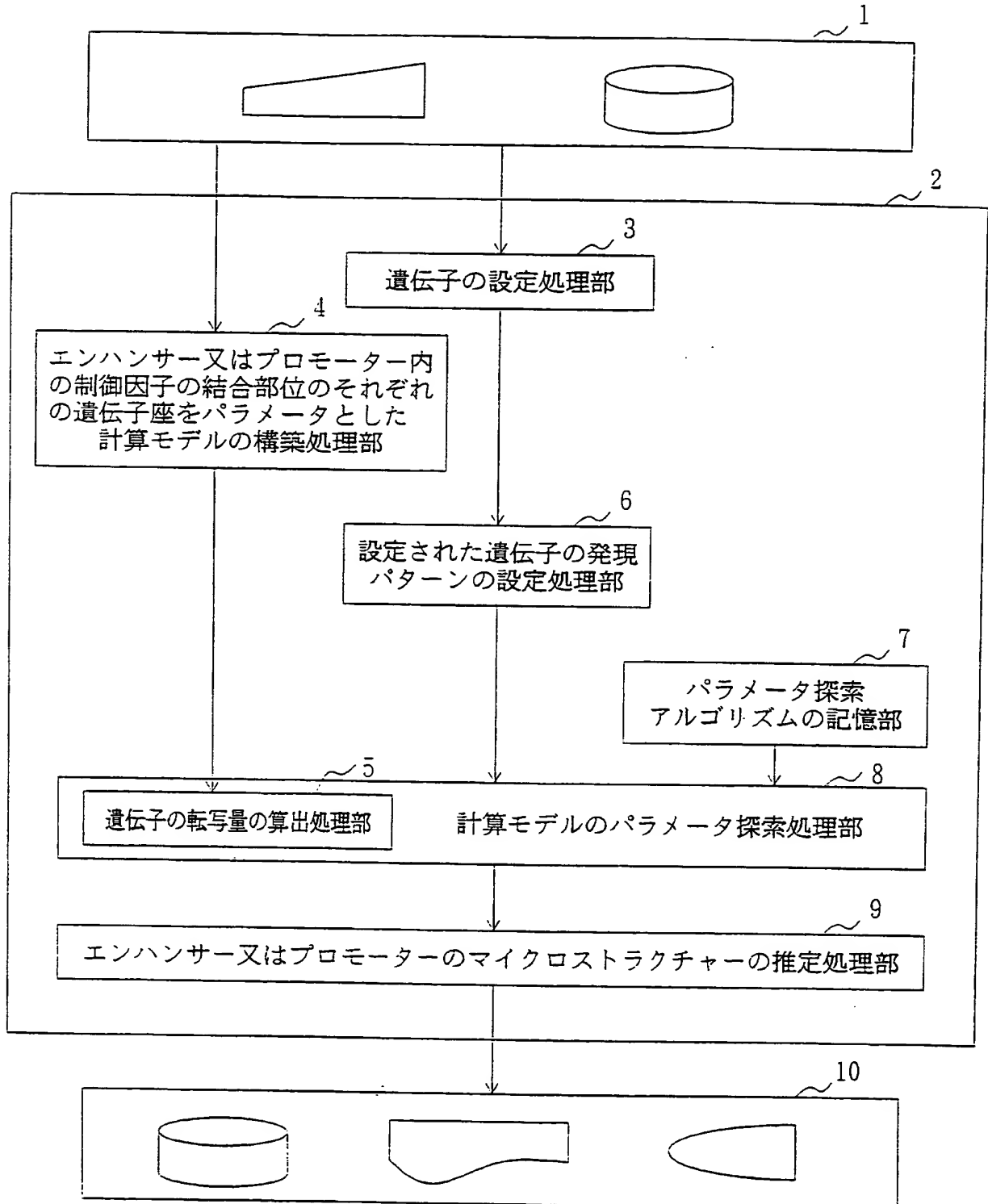
(e) 前記エンハンサー又はプロモーターのマイクロストラクチャーを推定する手段とを具備することを特徴とする遺伝子の制御因子の結合部位構造推定装置。

5. 請求項4記載の遺伝子の制御因子の結合部位構造推定装置において、前記その他の遺伝子の発現の要因は、温度、分子量、拡散係数、結合親和力、反応速度、逆反応速度、一回の転写率であることを特徴とする遺伝子の制御因子の結合部位構造推定装置。

第 1 図

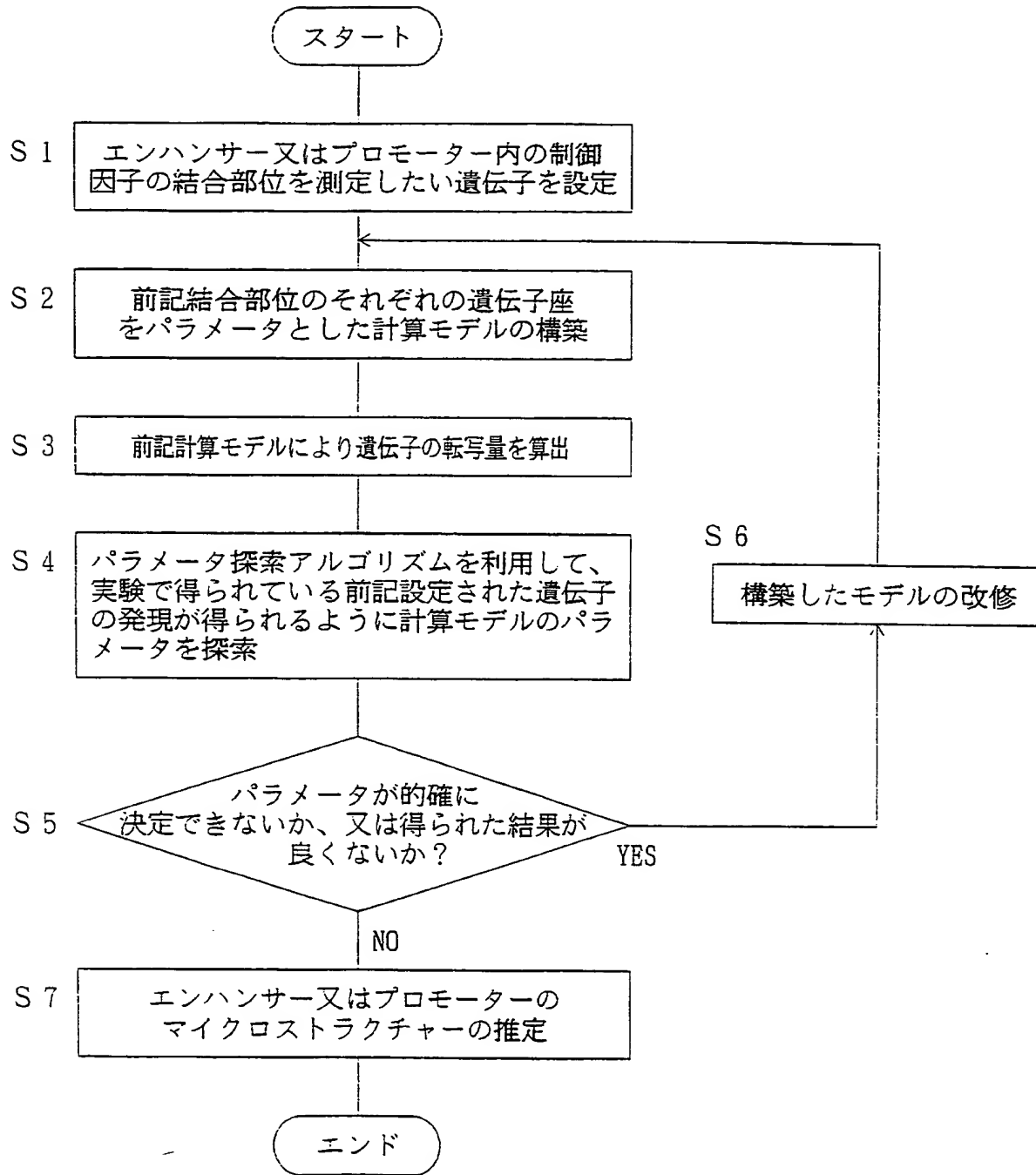


第 2 図



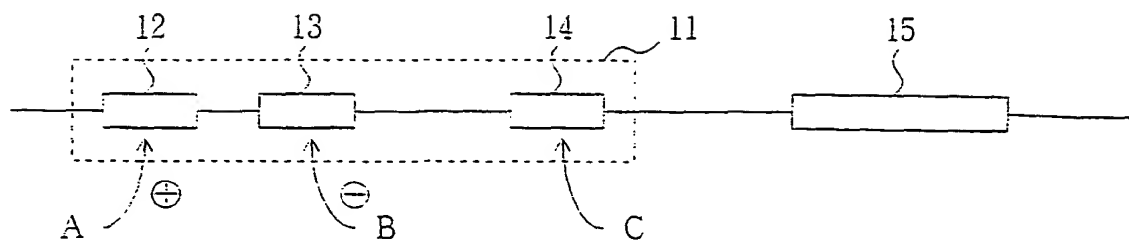


第 3 図

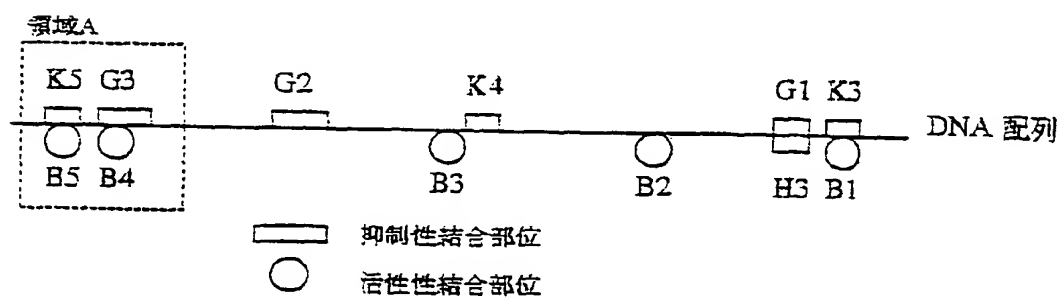




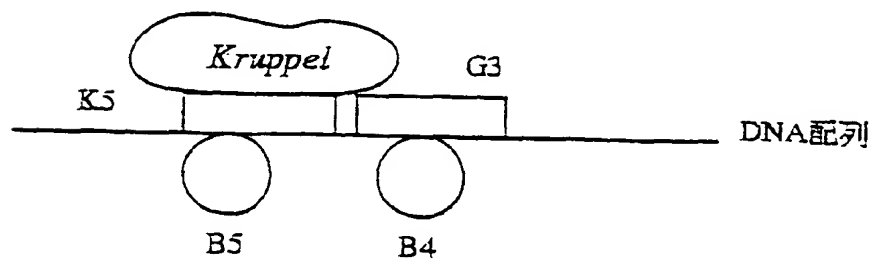
第 4 図



第 5 図

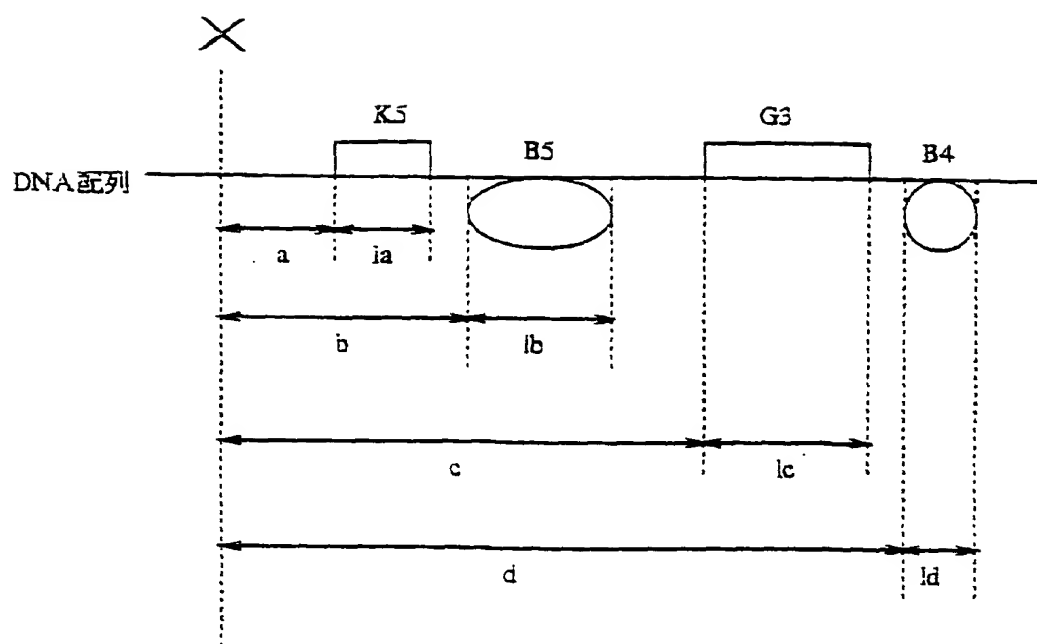


第 6 図

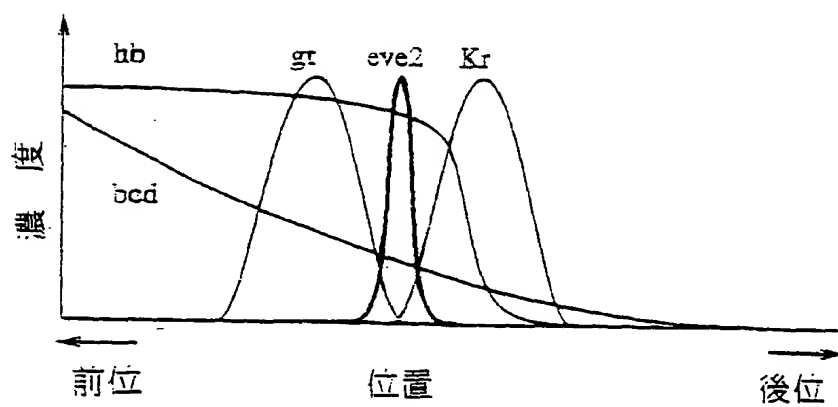




第 7 図

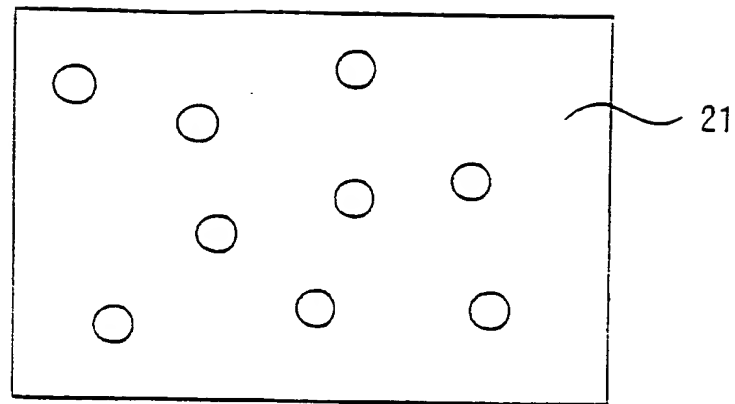


第 8 図

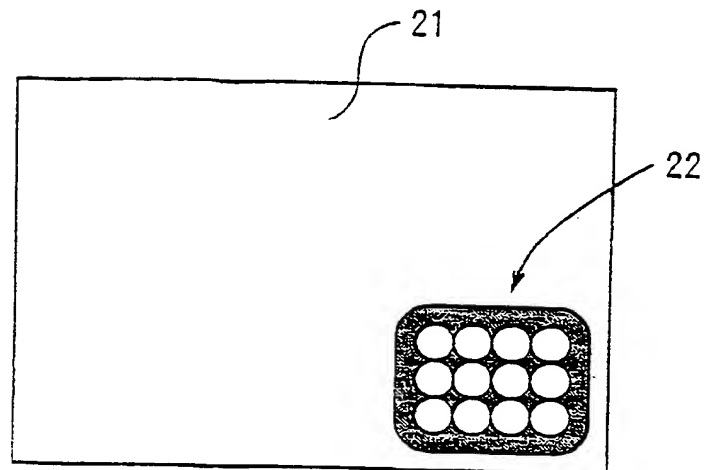




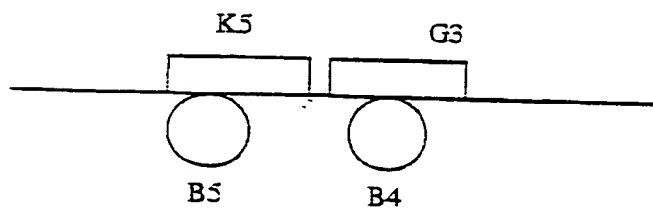
第 9 図



第 10 図

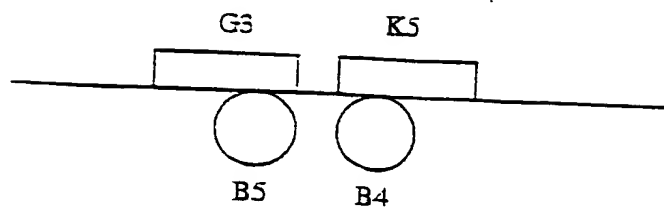


第 11 図

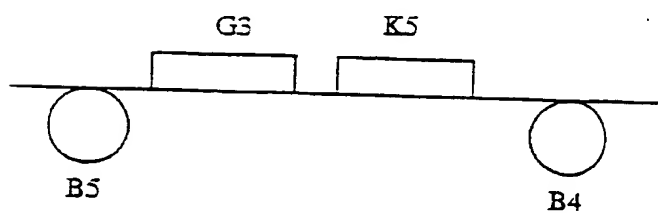




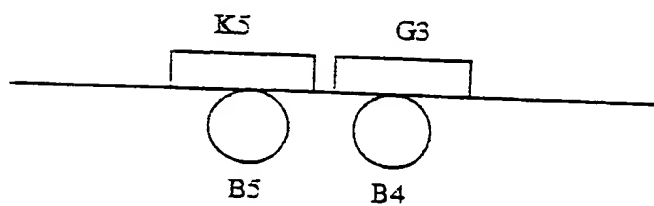
第 12 図



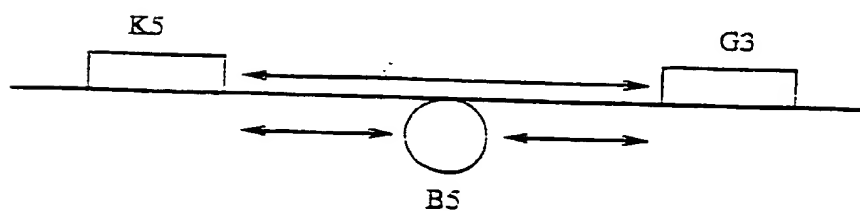
第 13 図



第 14 図



第 15 図





INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/03697

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/09, G06N3/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/09, G06N3/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PA	WO, 2000/111145, A1 (Fujitsu Ltd.) 02 March, 2000 (02.03.00) & JP, 2000-60553, A	1-5
PA	JP, 2000-57124, A (NEC Corporation et al.) 25 February, 2000 (25.02.00) (Family: none)	1-5
A	US, 5598350, A1 (National Institute of Genetics, et al.) 28 January, 1997 (28.01.97) & GB, 2283840, A & JP, 7-274965, A	1-5
A	JP, 6-261755, A (Toshiba Corp.) 20 September, 1994 (20.09.94) (Family: none)	1-5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to

understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is

combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family


Date of the actual completion of the international search
04 August, 2000 (04.08.00)Date of mailing of the international search report
19 September, 2000 (19.09.00)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl ¹ C12N15/09, G06N3/12		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl ¹ C12N15/09, G06N3/12		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PA	WO, 2000/11145, A1 (FUJITSU LTD) 2.3月.2000 (02.03.00) & JP, 2000-60553, A	1-5
PA	JP, 2000-57124, A (日本電気株式会社 他) 25.02月.2000 (25.02.00) ファミリーなし	1-5
A	US, 5598350, A1 (国立遺伝学研究所長 他) 28.1月.1997 (28.01.97) & GB, 2283840, A & JP, 7-274965, A	1-5
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 04.09.00	国際調査報告の発送日 19.09.00	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 本間 夏子 	
	4N	9637
	電話番号 03-3581-1101 内線 3488	
